

ゲノム編集技術を用いて iPS 細胞から“ユニバーサル”な血小板の作製に成功

鈴木大助元京都大学院生（現 千葉大学医学部 学部学生）、杉本直志講師（京都大学 CiRA）、堀田秋津講師（京都大学 CiRA）および江藤浩之教授（京都大学 CiRA、千葉大学再生治療学研究センター長）らは、ゲノム編集技術を用いて iPS 細胞から HLA クラス I を欠失させた巨核球株 (imMKCL) を作製し、HLA 欠失血小板を製造することに成功しました。HLA 欠失 iPS 血小板は、HLA クラス I の型を問わずに輸血可能な“ユニバーサル”製剤となります（図 1）。

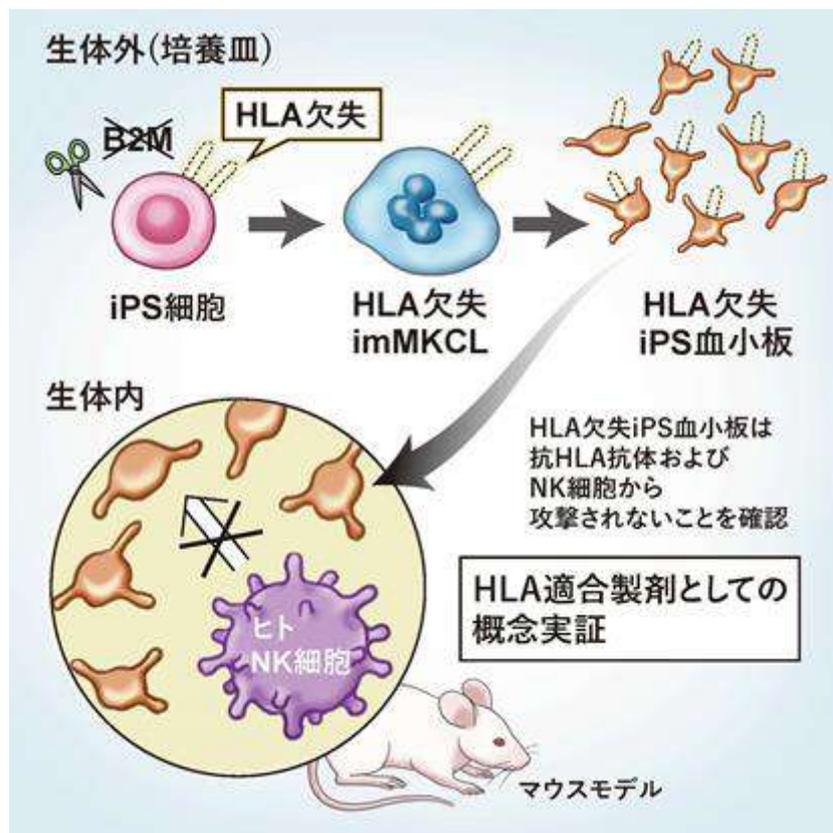


図 1 論文の概要図

iPS 細胞から、ゲノム編集によって HLA クラス I が欠失した巨核球株を作製し、血小板を製造した。この血小板は培養皿内で NK 細胞に攻撃されないことに加え、新たに確立したマウスモデルにおいて問題なく循環することを実証した。HLA クラス I 欠失 iPS 血小板は万人に輸血可能な“ユニバーサル”製剤として期待ができる。

血小板輸血患者の 5%程度に起こる、免疫反応が関与する血小板輸血不応症では、血小板の型が合致しないと拒絶されてしまうため献血可能なドナーが限られ、供給が不足するリスクは高くなります。このような血小板輸血不応症は、妊娠や血小板輸血を通じて、自分と

異なる HLA クラス I に対する抗体ができてしまうのが主因となっています。ヒト iPS 細胞を使った血小板作製技術は、ドナーに依存する献血を補完する生産システムとして臨床応用に向けた研究が進められています。しかし、HLA クラス I のミスマッチに起因する血小板輸血不応症の場合、HLA クラス I が合致する製剤が必要であり、日本人の約 9 割をカバーするには 140 種類の HLA クラス I が必要という課題がありました。

江藤教授、杉本講師らのグループは、2010 年にヒト iPS 細胞から血小板が生産できることを発表しましたが、輸血に必要なスケールでの血小板作製技術を開発するため、血小板を生み出す巨核球に着目して研究を進めてきました。2014 年に、ヒト iPS 細胞から自己複製が可能な巨核球を誘導することに成功し、生体外で凍結保存も可能な不死化巨核球株 (imMKCL) として作製する方法を確立しました (中村ら 2014)。2018 年には、巨核球から血小板が出来るには「乱流」が重要なことを見出し、乱流が生じるバイオリクター機を開発し、良質の血小板を効率よく作ることで、輸血に必要な量を製造することに成功しました (伊東、中村ら 2018)。

この imMKCL から作られる血小板が HLA クラス I を発現しないように遺伝子操作をすれば、血小板輸血不応症にも有効な血小板製剤が、実際に輸血製剤スケールに対応可能なシステムで作れることとなります。一方、血小板に限らず HLA クラス I が欠失した細胞を輸血あるいは移植しても NK 細胞に拒絶されないかの検証はこれまで十分には行われていませんでした。NK 細胞は、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞などを含む HLA クラス I の発現が低下した細胞を攻撃することが知られていますが、ヒト NK 細胞を有し、HLA 欠失細胞が拒絶される動物モデルは確立されていませんでした。

そこで、培養皿内での NK 細胞の反応性の検証に加え、熊本大学との共同研究を通じて、NK 細胞を含むヒト血球系を持つマウスモデルを確立し、実際に HLA クラス I 欠失血小板が免疫システムに排除されることなく体内を循環することを確認しました。

本研究では、臨床応用が進められている iPS 血小板システムに HLA クラス I 欠失技術を組み込むことに成功し、NK 細胞を含めた培養皿での実験と動物モデルを用いた免疫反応の検証を行い、HLA 欠失 iPS 血小板が抗 HLA 抗体、NK 細胞の何れからも攻撃されないことを確認しました。この成果は、HLA 欠失 iPS 血小板が“ユニバーサル”な HLA 適合製剤として使用できる概念実証 (POC : proof-of-concept) に当たります。HLA 欠失 iPS 血小板の臨床応用は、HLA クラス I の不適合に由来する血小板輸血不応症の方の供給リスクの解消と、iPS 血小板のコスト低減にも繋がると期待されます (図 2)。

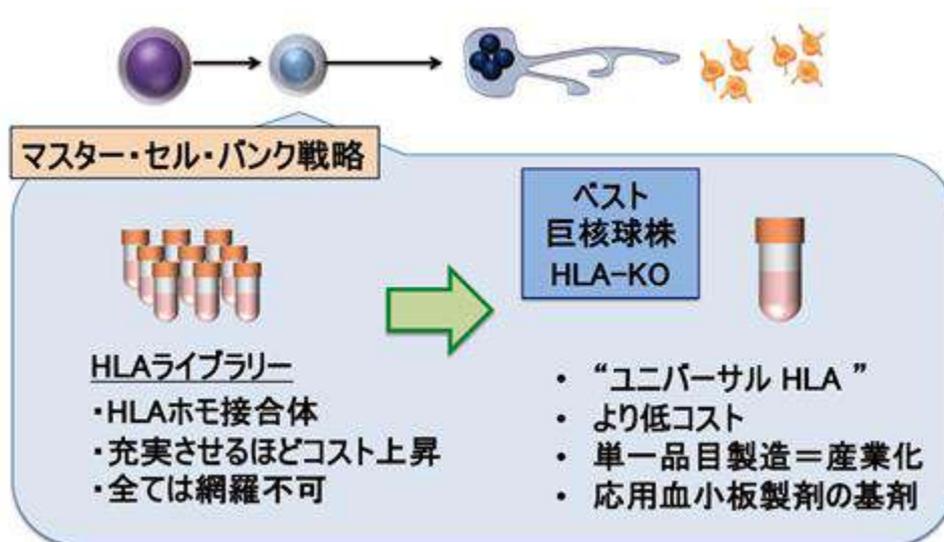


図2 HLA 欠失 iPS 血小板製の展望

従来の巨核球株マスターセルバンク戦略では、HLA クラス I を適合させるには多くのライブラリーを取り揃える必要があるが、HLA 欠失 iPS 血小板であれば最適な株から“ユニバーサル”単一製剤として製造が可能であり、産業化につながる。また均一な品質は血小板の応用治療の器材としても適している。

この研究成果は 2019 年 12 月 26 日に米国科学誌「Stem Cell Reports」でオンライン公開されます。

論文情報

タイトル iPSC-derived platelets depleted of HLA class-I are inert to anti-HLA class-I and NK cell immunity

雑誌 Stem Cell Reports

DOI: 10.1016/j.stemcr.2019.11.011.

日文全文: https://www.amed.go.jp/news/release_20191227.html

文: JST 客観日本編集部翻訳編集